Aus der Medizinischen Universitätsklinik zu Würzburg
Vorstand: Professor Dr. E. Grafe.

Tierexperimentelle Untersuchungen über die Wirkung neuer Insuline.

Inaugural-Dissertation

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Bayerischen Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Werner Just

aus Dresden

1938

Buchdruckerei Richard Mayr, Würzburg.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Würzburg.

Referent: Privatdozent Dr. Fritz Strieck

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit gewidmet!

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549803_0201

Seit der Entdeckung des Insulins und seiner Einführung in die Behandlung des Diabetes sind nun 14 Jahre vergangen und man sollte denken, daß die Therapie dieser Krankheit im Prinzip zum Abschluß gekommen sei. Das trifft jedoch nicht zu. — Wenn auch die Hochflut des Schrifttums auf diesem Gebiete langsam abschwillt, so geht doch das Forschen nach den zweckmäßigsten Behandlungsmethoden unermüdlich weiter. Das hängt einmal mit dem individuell verschiedenen Gestaltungsweisen der Krankheit zusammen, vor allem aber mit der leider nicht aus der Welt zu schaffenden Tatsache, daß das Insulin

1. keineswegs die Diätbehandlung überflüssig gemacht hat, sondern nur in Verbindung mit ihr wirklich wirksam ist und
2. in manchen Fällen Nebenwirkungen zeigt, die oftmals zu unangenehmen Situationen führen können.

Es besteht natürlich kein Zweifel, daß man bei den schweren, diätetisch nicht zu beherrschenden Fällen, bei allen ernsteren Komplikationen, mit Hilfe des Insulins eine lebensrettende und lebenserhaltende ideale Substitutionstherapie durchführen kann. Es ist zweifellos ein Wunder hormonaler Ersatztherapie.

Schon lange vor der Entdeckung des Insulins wußte man, daß in der Bauchspeicheldrüse ein Stoff gebildet und in das Blut abgegeben wird, der für die Erhaltung des normalen Zuckerstoffwechsels unerläßlich ist. Man wußte nur nicht, was es für ein Stoff war und wie man ihn gewinnen sollte, bezw. man kannte die ganzen Zusammenhänge zwischen Pankreas und Diabetes noch nicht so genau wie heute. Erst als es von Mering und Minkowski 1889 gelang, experimentell einen Pankreasdiabetes zu erzeugen, und man somit Klarheit über die für den Diabetes wichtige Funktion des Pankreas erhielt, kam man auf den Gedanken, die Zuckerkrankheit des Menschen durch Pankreaspräparate zu beeinflussen. Doch erst 1921 gelang es Banting und Best ein brauchbares Präparat herzustellen, nachdem es ihnen gelungen war, die äußere Sekretion der Bauchspeicheldrüse durch Unterbindung ihrer Ausführungsgänge zu beseitigen. Sie erwarben sich somit das unvergängliche Verdienst, die Begründer der Hormontherapie des Diabetes geworden zu sein.

Nun vergingen noch 2 Jahre, ehe diese Substitutionstherapie Allgemeingut wurde.

Doch schon kurze Zeit nach der klinischen Anwendung des Insulins stellten sich Mängel ein.

1. Es kam häufig zu hypoglykämischen Reaktionen.
2. Bei vielen Fällen war es unmöglich, große Blutzuckertagesschwankungen zum Schwinden zu bringen.
3. Die Einspritzung unter die Haut war lästig und zu wenig handlich.

Auch noch andere Nachteile wie Insulinresistenz, lokale Reaktionen usw. wären zu erwähnen.

Zur Beseitigung aller dieser vorgenannten Mängel war es zunächst einmal notwendig, sich weiter mit theoretischen Vorstellungen über den Diabetes zu befassen, bezw. sich mit der physiologischen Steuerung der Insulinsekretion auseinander zu setzen. Leider wissen wir darüber sehr wenig. Sicher ist nur, daß die Abgabe in einem zeitlichen und quantitativen Verhältnis zur Aufnahme und Resorption der Nahrung steht. Sicher ist weiterhin, daß der Kohlehydratstoffwechsel durch den Blutzucker selbst ein Regulator der Insulinsekretion ist. Erhöhung des Blutzuckerspiegels hat Insulinsekretion zur Folge. Es war nun die Frage, wie kann man die künstliche Insulinzufuhr der physiologischen Insulinsekretion möglichst angleichen.

Von den dahingehenden Untersuchungen sei ein kurzer Überblick gegeben. Zunächst tauchte einmal der Gedanke auf ,ein sogenanntes Depot von Insulin zu setzen, um einerseits das häufige Spritzen zu vermeiden, andererseits aber durch Zugabe irgend einer nur schwerlöslichen Substanz die Resorption zu verlangsamen. In diesem Sinne liegen Arbeiten vor von Krogh[1]), Layton[2]), Müller und Corbitt[3]), Bernhardt und Strauch[4]), Burgeß und Campbell[5]), Dolfini und Deganello[6]), Katsch-Scholderer und Klatt[7]) mit ihrem „Insulindurant", und in neuester Zeit die Versuche mit Brunnengräbers[8])-Depotinsulin, von dem behauptet wird, daß es eine stärker und langsamer senkende Wirkung auf den Blutzucker habe, wie die 500 Fälle, bei denen es angewandt wurde, beweisen sollen. Doch fehlen bis jetzt Berichte weiterer Beobachter.

Sie alle gaben das Insulin zum Teil in fester Form, eingekleidet in Substanzen, die vom Magen und Darm schwer angreifbar sind, oder in flüssiger Form, vermischt mit Ölen oder Lipoiden. Doch kein Präparat zeigte so positive Ergebnisse, daß es Eingang in die Klinik gefunden hätten.

Unabhängig davon glaubten andere Forscher, man müsse das Insulin noch reiner darstellen, um eine Idealwirkung zu erzielen. Und so beschäftigte man sich mit der Herstellung des kristallinischen Insulins. — Insulin wurde zum erstenmal kristallisiert von John Jacob Abel von der John Hopkins-Universität. Das von ihm hergestellte Präparat ist die reinste bekannte Form von Insulinsubstanz. Auf die genaue chemische Zusammensetzung möchte ich hier nicht eingehen, da es zu weit führen würde und für diese Arbeit belanglos ist. Erwähnen möchte ich nur, daß es chemisch ein Eiweißkomplexmolekül ist, das aus den verschiedensten Aminosäuren besteht.

Viele Wissenschaftler haben sich nun mit der Frage der chemischen Zusammensetzung beschäftigt und die Wirkung dieses Insulins ausprobiert, so vornehmlich Jensen[9]), Wintersteiner[10]), Geiling-Du Vigneaud[11]), Evans[12]), Lawder[13]), Bruch[14]), Bürger-Pätzoldt[15]) u.a.m. Mit der ausgesprochen klinischen Erprobung befaßte sich Scott[16]), Howerd[17]), Himsworth[18]), Mains-Mc Mullin[19]) u.a. Alle Autoren fanden übereinstimmend eine langsamere Wirkungsweise, die aber noch immer nicht den klinischen Anforderungen entsprach und deshalb auch keine Aufnahme in die Diabetestherapie fand.

Sayhun, der sich ebenfalls mit diesem Problem befaßte, betrachtete die Herstellung dieses kristallinischen Insulins noch von einer anderen Seite aus. Er sagt: Insulin hat einen isoelektrischen Punkt. Oberhalb und unterhalb dieses Punktes ist eine Zone, in der die Löslichkeit variabel ist. Der oberste Punkt dieser Zone liegt gewöhnlich bei einem Ph von 6,0 bis 7,2. Sayhun stellte nun ein neues kristallinisches Insulin her, dessen Löslichkeit nur bei einem Ph von 6,4 bis 7,0 vollständig ist. Er kam so der Wasserstoffionenkonzentration der Gewebsflüssigkeit näher und erreichte damit eine langsamere Resorption, die er auch klinisch bestätigt fand, indem in der Hälfte der Fälle die blutzuckersenkende

Wirkung größer war als beim gewöhnlichen Insulin. Allein er vermochte damit nicht, die großen Blutzuckertagesschwankungen zu beseitigen, ebensowenig die Hypoglykämien zum Schwinden zu bringen. Doch der vielversprechende Anfang dieser Versuche hat noch andere Forscher auf den Plan gerufen und so geht, wie Sayhun in seiner Arbeit schreibt, die Bearbeitung, d. h. die Erforschung und Verbesserung des kristallinischen Insulins noch weiter.

Inzwischen erschien vor ca. 1½ Jahren ein Artikel von Hagedorn[20]) aus Kopenhagen, worin ein weiteres neues Insulin, das Protamininsulin beschrieben wurde. Hagedorn baute seine Arbeitsweise vollkommen logisch auf, indem er folgende Überlegung anstellt: „Um eine langsame Wirkung zu erzielen, muß ich die Resorption des Insulins herabsetzen, ohne aber dabei die typische Wirkungsweise dieses Hormons nachteilig zu beeinflussen. Gelingt mir dies, so kann ich auch ohne weiteres die so gefürchteten hypoglykämischen Reaktionen vermeiden, die ja in der Hauptsache dadurch zustande kommen, daß die Blutzuckersenkung bei Gabe von Standardinsulin zu rasch vor sich geht." Um eine Verzögerung der Resorption zu erhalten, gibt es für ihn verschiedene Wege:

1. Insulin zu injizieren in Suspension, Emulsion, Öl oder ähnlichen Substanzen.

2. Insulin zu injizieren zusammen mit vasokonstriktorischen Präparaten.

3. Ein gemischtes Insulin zu injizieren, das in der Gewebsflüssigkeit nur schwach löslich ist.

Diese 3 Methoden wurden von Hagedorn experimentell erprobt, jedoch ohne Erfolg, bis Versuche, die für andere Zwecke vorgenommen wurden, zeigten, daß ein Gemisch von Insulin und Nukleinsäure eine mehr saure isoelektrische Zone hat als Insulin allein. Auf Grund der nun angestellten Experimente glaubten Hagedorn und seine Mitarbeiter, das Insulin mit einigen basischen Stoffen so kombinieren zu können, daß die Kombination eine derartige isoelektrische Zone ergibt, die dem Ph der Gewebsflüssigkeit näher liegt, als dies beim gewöhnlichen Standardinsulin der Fall ist. In einer Mischung mit diesen Typen müßte das Insulin wirken wie eine Säure, während es sich im wäßrigen Insulin wie eine Base verhält.

Um diese Idee zu verwirklichen, wurden verschiedene derartige Substanzen ausprobiert, so Kyrine, Histone, Globine und Protamine, aber nur Letztere zeigten solche Löslichkeit, daß ein klinischer Versuch sich lohnte.

Die Kenntnis der Protamine ist schon sehr alt. Schon 1866 wurden sie von Miescher aus Salminen produziert. Besonders aber Kossel und seine Mitarbeiter waren es, die sich um die chemische Konstitution dieser Protamine bemüht haben. Nach dem heutigen Stand der wissenschaftlichen Forschung werden diese Eiweißarten in drei Gruppen eingeteilt:

1. Mono-
2. Di- Protamine
3. Tri-

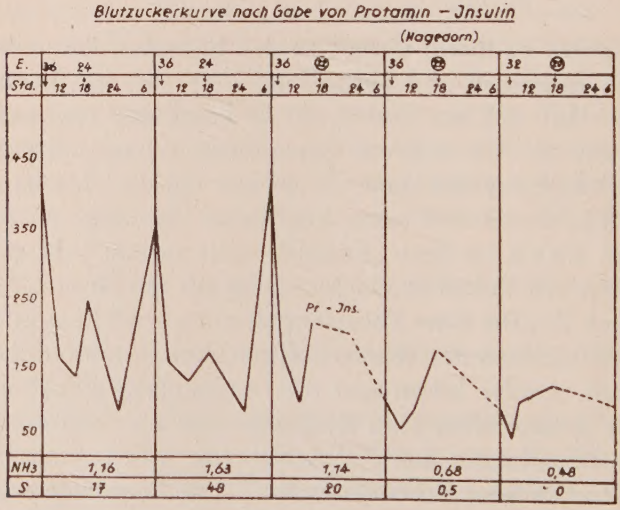
im Vergleich zu ihrem Gehalt an den basischen Bestandteilen, den Lysinen, Argininen und Histininen. Versuche mit diesen 3 Arten ergaben, daß sich am besten die Di-Protamine eigneten, weshalb auch diese zu den weiteren Experimenten verwandt wurden. Bei der Zusammensetzung dieser Protamine mit dem Insulin erinnerten sich Hagedorn und seine Mitarbeiter der oben erwähnten Arbeit von Sayhun über „kristallinisches Insulin". H. griff diesen Gedanken auf, indem er die Mischung auf ein Ph von 7,2 brachte, was durch Zugabe einer Phosphatpufferung erreicht wurde. H. kam somit am nächsten der Wasserstoffionenkonzentration der Gewebsflüssigkeit. Leider lassen nun die Mitteilungen von ihm Angaben über die genaue chemische Zusammensetzung vermissen, aber wir können sie erfahren aus der Arbeit von Scott und Fisher[21]) über „Studien über Protamininsulin." Die Protamine wurden aufgelöst in der Phosphatpufferung und zwar derart, daß pro 1 ccm 2,2 mgr Protamin zugegeben wurde. Die Protamine wurden gewonnen aus den Spermien des Salmo irideus. Wenn man nun zu 5,5 ccm gewöhnlichen Insulins 1,0 ccm Protaminlösung hinzugab, so erhielt man 40 Einheiten pro ccm bei einem Ph von 7,2. Mit derartigen Mischungen stellte Hagedorn klinische Experimente an und kam dabei zu verblüffenden Ergebnissen.

Ich möchte nun kurz Bericht erstatten über die Art und Weise der Anwendung des Protamininsulins.

Man verwandte 2 Ampullen, in der einen gewöhnliches Insulin, in der anderen die vorgenannte Protaminlösung. Gemischt wurden beide Ampullen kurz vor der Injektion. Da sich dabei eine Trübung ergab, war es notwendig, die Ampulle vor dem nächsten Gebrauch gut umzuschütteln.

Die Dosierung wurde so vorgenommen, daß am Morgen gewöhnliches Insulin weitergegeben wurde, die Abenddosis aber durch eine Protaminspritze ersetzt wurde. Bei dieser Art der Anwendung machte H. obengenannte interessante Beobachtung, die dann auch schon kurz nach ihrer Veröffentlichung von R o o t[22]) und seinen Mitarbeitern vollauf bestätigt wurde.

Tabelle 1.



Die Versuche wurden an 100 Diabetikern ausgeführt, die genauestens und peinlichst ausgesucht waren, sodaß eine größtmöglichste Garantie für die Richtigkeit der Ergebnisse gewährleistet war. Ich möchte nur kurz die Vorteile skizzieren, die H. feststellen konnte und die einen umwälzenden Fortschritt in der Diabetestherapie darstellen.

1. Die blutzuckersenkende Wirkung war eine bedeutend langsamere und längeranhaltende, ca. um das Doppelte, als bei dem gewöhnlichen Insulin.

2. Infolge langsamerer Resorption weitgehendste Ausschaltung von hypoglykämischen Reaktionen.

3. Große Tagesblutzuckerschwankungen konnten nach mehrtägiger Gabe zum Schwinden gebracht werden.

4. Kein Auftreten von irgendwelchen unangenehmen Nebenreaktionen.

5. Die Patienten fühlen sich wohler und bedeutend besser als dies beim gewöhnlichen Insulin der Fall ist.

Allerdings gibt H. auch zu, daß dieses neue Insulin noch geringe Nachteile zeigt, die aber im Vergleich zu den festgestellten Ergebnissen absolut untergeordneter Natur sind. Es wäre zu erwähnen, daß die Ampullen immer erst gemischt werden müssen und daß sie kühl, am besten im Eisschrank aufzubewahren sind, was ev. bei der Anwendung zu Hause Schwierigkeiten machen könnte, und daß die volle Wirksamkeit erst nach 4—5 Tagen eintritt.

Es ist selbstverständlich, daß diese Mitteilung, die einen großen Fortschritt bei der Insulintherapie darstellt, viele Kliniker, insbesondere Amerikaner, Engländer und Dänen anhielt, die Hagedorn'schen Angaben nachzuprüfen. Vollkommen übereinstimmend wird von ihnen bestätigt, daß die blutzuckersenkende Wirkung größer und langsamer ist als beim gewöhnlichen Standardinsulin. Weiterhin geben sie zu, daß sich die Kohlehydrattoleranz in den meisten Fällen bessert. So sind Beobachtungen mitgeteilt von Jacobi[23]), der auch 4 Krankengeschichten ausführlich zur Kenntnis bringt. Root-White-Marble und Stotz weisen in ihrer Arbeit noch ganz besonders darauf hin, daß der große Vorteil des Protamininsulins in zwei Punkten liege. Erstens einmal könne man große Schwankungen in der Höhe des Blutzuckers, die oft bei der Behandlung mancher Diabetiker große Schwierigkeiten machen, mit Protamininsulin gut beeinflussen und damit vor allem auch eine Beruhigung des Kranken und dessen Familie, die doch immer in der Angst leben, eine Insulinreaktion zu bekommen, bewirken. Zweitens sei es für die Patienten sehr wesentlich, ob sie am Tage mehreremale oder nur einmal spritzen müßten. Sie bestätigen damit vollauf die Angaben Hagedorns und erkennen die neue Aera an, die mit dieser Entdeckung anhebt, wenngleich sie auch darauf aufmerksam machen, daß das Protamininsulin sich noch immer im experimen-

tellen Stadium befinde. In dem gegenwärtigen Stadium bestehen zwar noch immer kleine Mängel der Behandlungsart, die aber nach Ansicht dieser Autoren sicher noch auszumerzen sind. Folgende Nachteile sind ihnen aufgefallen:

1. Das von Hagedorn angegebene Gemisch ist nicht völlig stabil. Es kann nach der Mischung nicht Tage oder Wochen noch gebrauchsfähig gehalten werden. Die zu mischenden Substanzen müssen steril und kühl aufbewahrt werden. Die Ampullen müssen jedesmal vor einer Injektion gemischt werden.

2. Gegenwärtig muß man noch zwei Arten von Insulin geben, Standardinsulin am Morgen, Protamin am Abend.

3. Da die Wirkung so langsam und stufenweise vor sich geht, ist das Protamin nicht zu gebrauchen im Coma, bei Infektionen oder Acidose.

4. Es ist schwer, bei Injektionen am Abend den Blutzucker nachts zu kontrollieren und im Notfalle die richtigen Maßnahmen zu ergreifen. Es müßte ein Insulin hergestellt werden, das beide Eigenschaften, das des neuen und das des alten besitzt.

Auch Joslin[24]) setzt sich mit diesen Nachteilen auseinander. Wenn er auch davon spricht, daß die Banting-Aera von einer neuen Hagedorn-Aera abgelöst wird, so verkennt er doch nicht, daß noch einige Mängel zu beseitigen sind. Er behandelte 100 Patienten mit Protamin und hat noch nicht herausfinden können, welches die besten Anwendungsmöglichkeiten sind. Ihn stören besonders folgende Beobachtungen:

1. Die Injektionen sind schmerzhaft.

2. Die Injektionsstellen müssen auf das sorgfältigste gewählt werden.

3. Die Wirksamkeit ist bei verschiedenen Konzentrationen unterschiedlich.

4. Ebenso wie das Insulin selbst müssen auch Spritze und Nadel kühl aufbewahrt werden, und was besonders wichtig ist, sie müssen beim Aufziehen absolut trocken sein.

5. Der volle Erfolg tritt erst nach 5—6tägiger Anwendung ein, ist also damit, wie auch schon von anderen Autoren berichtet, für dringende Fälle, wie Coma usw. nicht brauchbar, hier muß noch Standardinsulin gegeben werden.

Campbell-Fletscher und Kerr[25]) machten folgenden interessanten Versuch zum genauen Studium der hypoglykämischen Reaktion. Gaben sie bei einem Patienten 20 Einheiten gewöhnliches Insulin am Morgen, so trat regelmäßig nach 4 Stunden eine Hypoglykämie auf, spritzen sie dagegen 50 Einheiten Protamin, so setzte selbst nach 24 Stunden noch keine Reaktion ein. Offenbar ist dabei nicht die Blutzuckerhöhe, sondern das langsame Abfallen des Blutzuckers der Grund für das seltene Auftreten der Hypoglykämie. Tritt aber doch einmal eine solche ein, so ist die Dauer natürlich viel länger als nach gewöhnlichem Insulin. Sie machen weiterhin darauf aufmerksam, daß die Umstellung auf Protamin nicht abrupt geschehen darf, sondern man müsse sich allmählich einschleichen. Was die Dosierung anbelangt, haben sie es zum Teil sogar so gehandhabt, daß Protamin und kleine Mengen Standardinsulin in einer Spritze verabreicht wurden. Sie benutzten dazu eine lange, dünne Nadel und vermieden die Mischung der beiden Insuline. Sie handeln hier im Gegensatz zu anderen Autoren. Sprague[26]) und Mitarbeiter warnen davor, beide Insuline in einer Spritze zu geben, da sowohl die Wirksamkeit beider Substanzen abgeschwächt wird, als auch vor allen Dingen lokale Reaktionen auftreten. Dieser Meinung schließen sich auch die meisten Autoren an und mir scheint dies auch richtiger zu sein, die Insuline nicht zu mischen.

Richardson und Bowie[27]) stehen bezüglich der gleichzeitigen Injektion von Standardinsulin und Protamininsulin auf dem Standpunkt, daß Patienten, die weniger als 40 Einheiten gewöhnliches Insulin brauchen, sofort auf Protamininsulin umgestellt werden könnten, wobei allerdings die Kohlehydratverteilung geändert werden muß, indem nämlich die Hauptmenge am Nachmittag und Abend zu verabreichen ist.

In allen diesen Arbeiten ist leider immer eine nähere Angabe über die einzuschlagende Diät zu vermissen. Immer wird nur davon gesprochen, bei Anwendung von Protamin, daß am Abend injiziert werden soll, um einen niedrigen Nüchternblutzucker zu erhalten, die Hauptkohlehydratmenge auch zu dieser Zeit zu geben. Allein es fehlen überall Angaben über die genaue Höhe und Verteilung der Kohlehydrate, Eiweiße etc.

Nachdem ich versucht habe, einen kurzen, so doch genauen Überblick über die Literatur des neuen Insulins zu geben, sei es mir gestattet, noch einmal in einem Schema die Vorteile und Nachteile aufzuzählen.

1. Vorteile:

a) Langsamere und längeranhaltende Wirkung auf die Senkung des Blutzuckers.
b) Weitmöglichste Vermeidung von hypoglykämischen Reaktionen.
c) Beseitigung von großen Blutzuckertagesschwankungen.
d) In vielen Fällen Einsparung von Insulin.
e) Die Patienten fühlen sich durchweg wohler.

2. Nachteile:

a) Mischung vor der Injektion.
b) Kühle Aufbewahrung von Präparat und Spritze.
c) Zu langsame Wirkung bei Coma und den Fällen, wo rasche Wirksamkeit notwendig ist.
d) bei schweren Diabetesfällen, ev. Zugabe von Standardinsulin.

Vergleicht man die Vorteile und die Nachteile, so wird man zugeben müssen, daß die Entdeckung des Protamins einen ganz bedeutenden Fortschritt in der Diabetesbehandlung darstellt und daß es absolut lohnend erscheint, an diesen Problemen weiterzuarbeiten, um noch ein besseres Präparat zu erhalten. Das Ideal bestände darin, wie schon Root und seine Mitarbeiter betonten, ein Insulin zu produzieren, was die Eigenschaften beider Insuline in sich vereinigt.

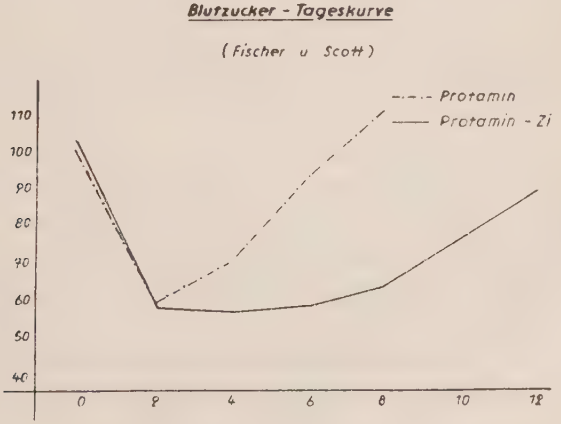
Scott und Fisher[28]) versuchten durch Zugabe eines Metalls das Protamininsulin noch weiter zu verbessern. Sie unternahmen Untersuchungen besonders mit Kupfer, Eisen und Zink. Speziell bei dem Letzteren hatten sie den Eindruck, daß es bei der Bildung des Protaminkomplexes eine wesentliche Rolle spiele. Nach Reduktion des Aschegehaltes wurden Aufschwemmungen des Protamins, dem man Zink zusetzte, Tieren injiziert. Dabei stellten sie fest, daß der niedrige Aschegehalt eine Bedeutung für die längeranhaltende Wirkung des Protamins hatte. Je höher nun der Aschegehalt war, desto länger dauerte die Blutzuckersenkung. Sie konn-

ten weiterhin feststellen, daß in dem käuflichen Insulin auch immer eine gewisse Menge von Zink vorhanden war, was für sie dafür beweisend war, daß dieses Metall mit der Insulinwirkung etwas zu tun hat. Deshalb dürfte es interessant sein, Untersuchungen Rabinowitsch's[29]) anzuführen, der den Zinkgehalt der einzelnen Gewebe des menschlichen Körpers bestimmte und somit in gewissem Sinne die Ansichten Scott's bestätigt.

Zinkkonzentrationen in menschlichen Geweben.
(nach Rabinowitsch).

Blut	0.52	Dickdarm	1.23
Lunge	0.68	Pankreas	1.24
Adrenalin	0,82	Herz	1.41
Gehirn	0.83	Muskel	3.02
Hoden	0.89	Niere	3.50
Ovarien	0.92	Leber	5.49
Dünndarm	1.06	Knochen	10.08
Magen	1.10	Haar	16.30
Milz	1.13		

Scott und Fisher konnten nun im Tierversuch nachweisen, daß Protamin + Zink eine noch längerdauernde Wirkung hatte, als Protamin allein. Die Wirkung hielt nämlich ca. 12—14 Stunden an.



Nach Beendigung der experimentellen Versuche gab Scott dieses Präparat, Protaminzinkinsulin genannt, für die klinische Anwendung frei und fand sowohl selbst als auch durch andere Kliniker seine im Tierexperiment gemachten Ergebnisse bestätigt. Über die chemische Zusammensetzung wäre zu sagen, daß auf 100 Einheiten 0,2 mgr Zink kamen, d. h. ein schwerer Diabeteskranker bekäme in 10 Jahren ca. 1 gr Zink. Es ist also eine verschwindend kleine Menge, sodaß man wohl kaum mit Nebenerscheinungen zu rechnen braucht. Die ganze Mischung wurde dann, ebenso wie es beim Protamin der Fall war, auf ein Ph von 7.2 eingestellt.

Klinische Anwendung.

Das Protaminzinkinsulin wurde ebenso angewandt, wie es von Hagedorn für das Protamin vorgeschlagen worden war. Es wurde also die morgendliche Spritze von gewöhnlichem Insulin beibehalten, die abendliche durch Protaminzink ersetzt, wobei später bei geeigneten Fällen auch die morgendliche Dosis auf Protaminzink umgestellt werden konnte, bezw. die Möglichkeit vorhanden war, sich auf eine Spritze zu beschränken.

Was die rein technische Seite anlangt, so ergaben sich gewisse Schwierigkeiten. Die Spritze verstopfte und verklebte infolge des Zinkgehaltes oder aber sie war schlecht durchgängig wegen des Auftretens von Karbonaten beim Auskochen. Rabinowitsch, der wie schon erwähnt, Scott's Veröffentlichungen nachprüfte, machte dieselben Beobachtungen und empfiehlt, die Spritze nicht auszukochen oder in Alkohol aufzubewahren, sondern sie mit Salzsäure, bezw. für den Patienten geeigneter, mit gewöhnlichem Speiseessig auszuspülen und sie dann vollständig zu trocknen, um sie nachher kühl aufzubewahren.

Rabinowitsch warnt davor, beide Insuline in einer Spritze zu geben, ja er verlangt sogar, die Injektionen an zwei verschiedenen Stellen zu machen, um sowohl lokale Reaktionen zu vermeiden, als auch das Ph unverändert zu lassen. Was nun die Beständigkeit des Protaminzinks betrifft, so meint er, daß die Mischung noch nach 6 Monaten haltbar ist. Wenn Blotner und Hulst-Vogelenzang behaupten, Protaminzink sei schon nach 20 Tagen wirkungslos, so könne das nur daran liegen, daß sie ein

anderes Präparat als das von Rabinowitsch benutzte, angewandt haben. Leider sind im Augenblick noch keine weiteren Mitteilungen über diesen Punkt vorhanden, sodaß abgewartet werden muß, welcher von beiden recht behält, wir neigen mehr der Ansicht Rabinowitsch's zu, weil auch wir bei den uns von der J.-G. hergestellten und freundlichst überlassenen Präparat eine lange Haltbarkeit feststellen konnten.

Interessant dürfte noch eine Beobachtung Rabinowitsch's sein, die besagt, daß in manchen Fällen eine gewisse Unregelmäßigkeit in der Wirkung des Protaminzink vorhanden war, d. h. bei einzelnen war keine dem Protaminzink entsprechende Senkung des Blutzuckers zu erzielen, bezw. bei den einen trat Hypoglykämie auf ,bei den anderen nicht. Er führt diese Unregelmäßigkeiten auf die antagonistische Wirkung von Insulin und Adrenalin zurück. Er meint, die Ausscheidung ist bei den einzelnen individuell verschieden, bei den einen mehr, bei den anderen weniger. Er glaubt nicht, daß es mit der Resorbierbarkeit, bezw. -verlangsamung zusammenhängt.

Über die Dosierung berichtet R., daß bei Gesunden praktisch kein Unterschied darin besteht, ob man 50 : 25 Einheiten oder 100 : 25 Einheiten spritzt. Bei insulinresistenten Diabetikern sei allerdings ein normaler Blutzucker nur mit ganz hohen Dosen zu erreichen, aber auch hier ist es gleichgültig, ob man 50 oder 100 Einheiten injiziert, lediglich die Geschwindigkeit des Abfalls ist eine andere, nicht aber die Höhe des Blutzuckers. Interessant sei fernerhin der Unterschied gegenüber Protamininsulin, da man nämlich mit großen Dosen Protaminzink so schnelle Blutzuckersenkungen erreichen könne, daß man es auch bei Acidose und Praecoma benutzte. Zum Beweis sei folgende Tabelle mitgeteilt.

Ergebnisse von Protaminzinkinsulin bei einem Diabetes mit schwerer Acidosis, Gangrän und Abszeß am Fuß.

Dat.	Stunde:	Sach.	Acet.	Acets.	Blutz.	KH.	Fett	Eiw.	Einh.
27.	20.45	+	+	+	0.270				200
	22.00				0.147				
28.	28.00	+	+	Sp.	0.102				
	11.00				0.087				
	14.00				0.093				
	17.00				0.076				
	20.00				0.074				
	23.00				0.075				
29.	2.00				0.075				
	5.00				0.063				
	8.00	0	0	0	0.063	254	42	105	40—0—30
30.	8.00	0	0	0	0.156	254	42	105	40—0—30
31.	8.00	0	0	0	0.108	254	42	105	40—0—30

Bevor ich noch auf die von Rabinowitsch angewandte Diät, die sogenannte Leiterdiät eingehe, sei noch kurz eine andere Arbeit über Protaminzink erwähnt, die sich in manchen Punkten sowohl mit den Ergebnissen von Scott und Fisher als auch mit den von Rabinowitsch dargelegten Ansichten nicht übereinstimmt. Es handelt sich um die Arbeit von Lawrence und Archer[30]) im British Medicinal Journal vom März 1937. Sie fanden ebenfalls eine Irregularität in der Wirkung und führen sie zurück auf die verschiedene Dispersion. Die Autoren geben zu, daß es bei schweren Diabetesfällen unbedingt notwendig ist, beide Insuline zusammen zu verwenden. Sie injizierten beide Insuline in der gleichen Spritze, an der gleichen Stelle und behaupten, daß trotzdem beide Insuline ihre spezifische Wirkung behielten. Sie verteilen Protaminzink und Standardinsulin im Laufe des Tages anders als Rabinowitsch. Die Autoren gaben zunächst früh Protaminzink und abends Standardinsulin. Allmählich wurde die Abenddosis weggelassen. Bei der Umstellung wurde derart vorgegangen, daß ¾ der früheren Totaldosis PZ. gegeben wurde und dazu die Hälfte von der früheren Morgendosis an St.J. Das St.J. wurde dann, wie schon erwähnt,

fortgelassen. Die ganze Umstellung mußte unter sorgtfältigster Kontrolle des Blutzuckers geschehen. — Vergleicht man die Dosierung von PZ. und St.J., so geben die Verfasser an, bis auf 75% des St.J. reduzieren zu können.

Wenn ich noch einmal kurz zusammenfassen darf, so sind folgende Punkte für das PZ. wichtig:

1. Schwinden von Hypoglykämie und Glykosurie.
2. Gewichtszunahme.
3. Besserung der Kohlehydrattoleranz.
4. Schwinden einer ev. vorhandenen Ketose innerhalb der nächsten 24 Stunden.
5. Bessere Kontrolle des endogen gebildeten Zuckers und des entstehenden Acetons.

Die Nachteile sind verschwindend gering, sie sind eigentlich nur rein technischer Art.

Vergleicht man Pr. mit PZ., so muß man zugeben, daß das Letztere einen weiteren Fortschritt darstellt. Der Zinkgehalt verringert die Absorptionsgeschwindigkeit noch weiter. Die verlängerte Wirkung ist nicht ausschließlich dem Zink allein zuzuschreiben.

Noch über ein weiteres neues Insulin, das Safranininsulin Jacobs und Ricketts[31]) möchte ich berichten. In Tierversuchen an normalen und pankreaslosen Hunden wurde die Wirkung einer schwach alkalisch gepufferten Lösung von Safranin und gewöhnlichem Insulin geprüft. Wenn man beide Lösungen zusammenbringt, so entsteht ein Präcipitat, das Insulin enthält. Injiziert man eine derartige Mischung, so tritt eine Hypoglykämie auf. Der Blutzuckerkurvenverlauf ist ähnlich wie bei Protamininsulin. Ph = 7.2

Versuche mit neuen deutschen Insulinen.

Die Experimente von Hagedorn und seinen Mitarbeitern haben uns zu weiteren Untersuchungen angeregt. Es hätte nun an und für sich nahegelegen, auch in Deutschland ebenfalls Protamininsulin herzustellen. Doch zur Zeit ist die Beschaffung der Protamine schwierig.

Mir wurde nun die Aufgabe gestellt, neue Insuline auf ihre Wirksamkeit im Tierexperiment zu prüfen. Es standen mir für diese

Versuche 2 Hunde zur Verfügung, ein Normalhund und ein pankreasloses Tier. Die Versuche nahmen lange Zeit in Anspruch, da der Hund immer wieder neu eingestellt werden mußte. Es konnten dabei interessante Beobachtungen gemacht werden.

Es handelte sich um folgende Präparate:

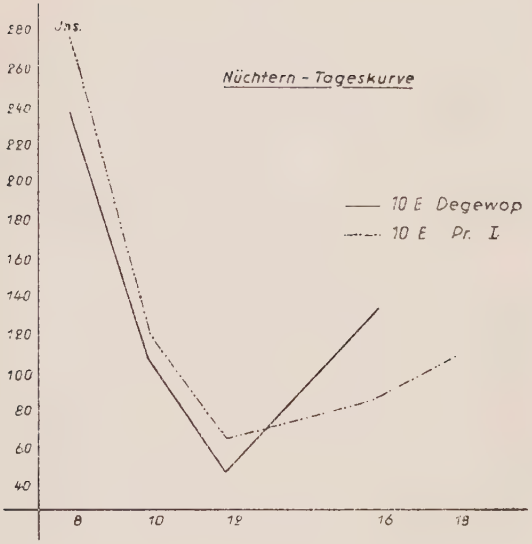
Präparat I Präparat II Präparat III Präparat IV

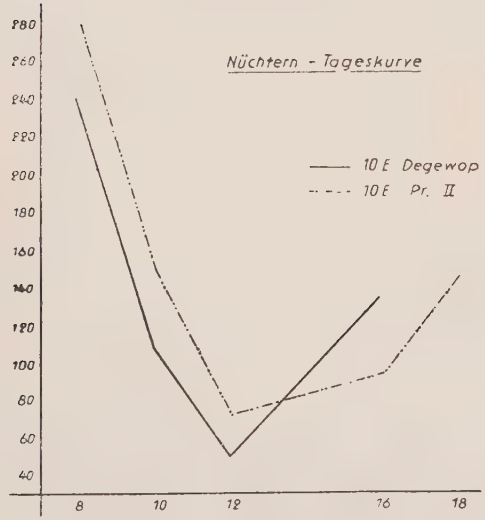
Die Versuche am Hund wurden nun so durchgeführt, daß erst Einstellung auf Standardinsulin erfolgte. Dann injizierten wir die neuen Präparate in der Weise, daß eine Injektion von Standardinsulin durch eines der zu prüfenden ersetzt wurde. Später wurden dann beide Injektionen mit einem der neuen Insuline gemacht. Bei allen Versuchen wurden gleichbleibende Kost und Dosen gegeben. Die Kost bestand in 1 Pfund Pferdefleisch, ¾ Liter Milch, vermischt mit 4 zerriebenen Tabletten Kankreon, verabreicht jeden Morgen 8 Uhr. Die Menge der Dosen betrug 2 × 10 Einheiten und zwar 8 Uhr morgens und 18 Uhr nachmittags.

Über die chemische Zusammensetzung der Präparate kann ich keine Angaben machen, da die beiden Herstellerfirmen solche nicht mitgeteilt und hier keine Analysen gemacht wurden.

1. Bei Präparat I handelt es sich um eine alkoholische Lösung von Insulin, wo bei dem Präparat II noch ein gewisser Prozentsatz Zink hinzugefügt ist. Diese beiden Präparate brauchten nicht gemischt zu werden und waren insofern sehr handlich und bequem zum Spritzen. Doch allmählich stellten sich, besonders bei Präparat II, technische Schwierigkeiten ein, da die Spritze infolge des Zinkgehaltes sehr leicht verstopfte und verklebte. Es war also dieselbe Beobachtung, die R a b i n o w i t s c h bei PZ. gemacht hatte. Wir konnten sie dadurch beseitigen, daß die Vorbereitung so gehandhabt wurde, wie R. sie vorschlug. Die Spritze wurde nicht, wie üblich, in Alkohol aufbewahrt, sondern nach der Einspritzung mit Salzsäure ausgespült, um dann in den Kühlschrank zu kommen.

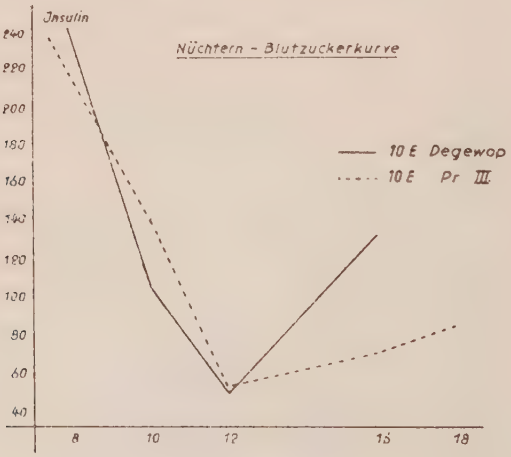
Was die Verträglichkeit beider Insuline betrifft, so kann nichts Nachteiliges genannt werden. Die Wirkung aber war nicht überzeugend, weshalb auch die Versuche bald wieder abgebrochen wurden. Zur Veranschaulichung seien kurze Tabellen für Präp. I und II angeführt.


Nüchtern - Tageskurve
10 E Degewop
10 E Pr. I
280
260
240
220
200
180
160
140
120
100
80
60
40
8
10
12
16
18


Nüchtern - Tageskurve
10 E Degewop
10 E Pr. II
280
260
240
220
200
180
160
140
120
100
80
60
40
8
10
12
16
18

2. Versuche mit Präparat III.

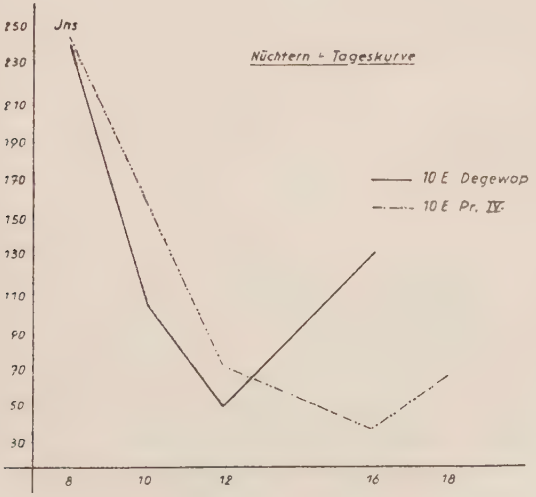
Präp. III enthält ein Hypophysenhinterlappenextrakt, von dem man aus Tierexperimenten weiß, daß es eine Wirkung auf den Blutzucker im Sinne einer Senkung auf denselben hat. Das vorliegende Präparat mußte vor Gebrauch gemischt werden, d. h. zu einer Ampulle Insulin = 5 ccm kam eine Ampulle Hypophysenhinterlappenlösung. 1 ccm dieser Mischung enthält dann 40 Einheiten. Die Mischung war etwas trübe und gab beim Stehenlassen einen leichten Bodensatz, sodaß es notwendig war, die Ampulle vor Gebrauch umzuschütteln. Die Haltbarkeit des Präparates war gut, da es noch nach Tagen und Wochen seine Wirksamkeit behielt. Auch bei diesen Versuchen blieben die Anordnungen die gleichen. Zunächst wurde der Hund auf St.-J. eingestellt und dann allmählich das Präp. III injiziert und zwar so, daß zunächst die abendliche Dosis ersetzt wurde und dann nach ein paar Tagen auch die morgendliche. Die Kost blieb die gleiche.



Die Tabelle zeigt nun, daß wohl die Senkung des Blutzuckers länger andauert, der Anstieg auch langsamer vor sich geht, aber die großen Blutzuckerschwankungen nicht vermieden werden, da nämlich der Nüchternblutzucker jeden Morgen wieder auf gleicher Höhe war. Es drängte sich nun der Gedanke auf, man müßte viel-

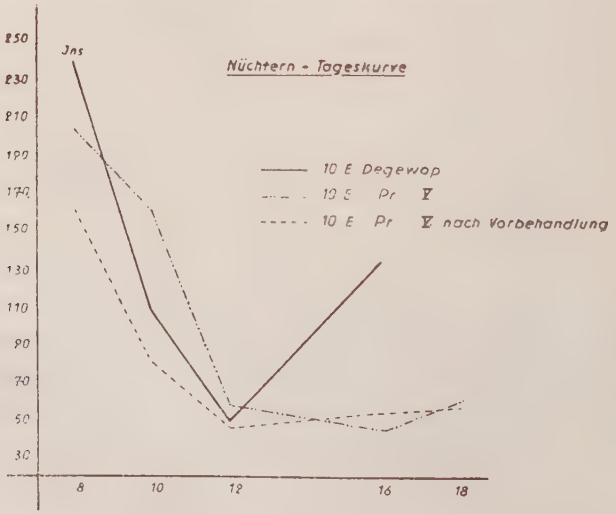
leicht das Präparat längere Zeit geben, um eine lange andauernde Blutzuckersenkung zu erzielen. Leider bestätigte sich diese Hoffnung nicht, da ohne Erhöhung der Dosis eine Abnahme des Nüchternblutzuckers nicht zu erreichen war und andererseits der Blutzucker in die Höhe ging, sobald etwas Kohlehydrate zugelegt wurden. Auch dieses Insulin erfüllte nicht die geforderten Bedingungen und somit wurden die Versuche abgebrochen. Der Grund des Versagens dürfte wohl in dem zu niedrigen Ph liegen.

3. Als weiteres Präparat stand uns Präp. IV, das ein Histon enthält, zur Verfügung. Histone wurden zum erstenmal dargestellt von K o s s e l und seinen Mitarbeitern aus den Drüsen verschiedener Vogelarten und den Spermien unzähliger Fische. Auf die einzelnen Punkte der chemischen Darstellung gehe ich nicht ein. Ich glaube, es genügt, wenn ich bemerke, daß es sich ebenso wie Protamine, Globuline etc. um Eiweißstoffe handelt. Wie die chemische Zusammensetzung ist, wurde von der Herstellerfirma nicht bekannt gegeben. Geliefert wird es in 2 Ampullen, wovon die eine Insulin + Histon, die andere eine Phosphatpufferlösung enthält. Beide Ampullen werden gemischt: 5 ccm Histoninsulin + 1 ccm Phosphatpufferung ergibt in 1 ccm = 40 Einheiten. Die Versuchsanordnung blieb dieselbe.



Die Tabelle zeigt einen Vergleich zwischen St.J. und Histon. Von einem fast gleichen Blutzucker ausgehend, zeigt sie ganz deutlich, daß Histoninsulin eine längeranhaltende Wirkung hat als St.J. und ebenso auch einen langsameren Anstieg. Wir gingen nun in der Versuchsanordnung so weiter, daß Präp. IV längere Zeit hintereinander gegeben wurde, um ev. so eine noch längere Wirkung zu erreichen. Die Vermutung bestätigte sich, der Nüchternblutzucker konnte bis auf 0.101 mgr% heruntergebracht werden. Leider aber stieg er schon einige Tage später wieder über 200 mgr%. Vielleicht war der Hund insulinresistent gegen Histon geworden. Trotzdem läßt sich nicht verkennen, daß ein gewisser Erfolg zu verzeichnen war und es lag deshalb der Gedanke nahe, nach einer Möglichkeit zu suchen, das Präp. IV auf irgend eine Weise zu verbessern.

Wir setzten aus diesem Grunde dem Präp. IV Zink zu und zwar wie bei S c o t t und F i s h e r angegeben, auf 100 Einheiten 0,2 mgr. Die Schwierigkeit bestand nun darin, daß jetzt immer 3 Ampullen gemischt werden mußten. 1. Präp. IV, 2. Phosphatpufferung und 3. Zinklösung. Doch ich glaube, daß diese technischen Schwierigkeiten in der Praxis leicht zu überwinden wären. Nachdem der Hund wieder eingestellt worden war, wurden die Versuche mit der gleichen Anwendung begonnen: Hier fand sich nun, wie nachfolgende Tabelle zeigt, unsere Vermutung bestätigt.



Es konnte hiermit:

1. eine langsamere und anhaltende Wirkung erzielt werden;

2. eine erhebliche Senkung des Nüchternblutzuckers herbeigeführt werden. Ja es gelang sogar, den Nüchternblutzucker bis auf den Normalwert herabzudrücken, was aber aus technischen Schwierigkeiten in einer Tageskurve nicht festgehalten werden konnte.

3. Trotz der tiefen Werte, die erreicht wurden, kam es zu keiner Hypoglykämie.

Die Bekömmlichkeit war im Anfang schlecht, d. h. der Hund bekam Durchfälle, machte einen etwas schlappen Eindruck, der Stuhl wurde grau. Doch nach 4—5 Tagen waren diese Zustände überwunden und man kann m. E. sagen, daß keinerlei Nebenstörungen weiterhin aufgetreten sind.

Zusammenfassung:

Im Anfang der Arbeit wurde von mir ein Überblick über den jetzigen Stand unseres Wissens über die neuen Insulinarten gegeben. Es wurde dabei die gesamte Weltliteratur berücksicht und die Vor- und Nachteile der Behandlungsmethoden kritisch gewürdigt. Im Tierversuch habe ich am Normalhund und am pankreaslosen Tier festgestellt, daß es mit gewissen Insulinen, die einen Eiweißzusatz enthalten, gelingt, eine längere Blutzuckersenkung zu erzielen, als nach Standardinsulin. Diese verlangsamte Wirkung ist auf die langsamere Absorption im Gewebe zurückzuführen und wird wohl in erheblicher Weise noch unterstützt durch die Pufferung auf einen Ph von 7.2. Eine noch bessere Wirkung, d. h. eine noch längerandauernde Blutzuckersenkung wird durch Zinkzusatz erreicht.

An der weiteren Erforschung dieser Frage arbeite ich weiter. Es wäre noch die Frage zu lösen, welche Eiweißstoffe am geeignetsten sind, diese günstige Wirkung am besten hervorzurufen. Die genaue Pufferung ist außerordentlich wichtig, ebenso wie der Metallzusatz. Die neuen Insuline werden die Diabetestherapie ohne Zweifel revolutionieren, und sich besonders segensreich auswirken bei den Diabetikern, die einen besonders labilen Blutzucker haben.

An dieser Stelle möchte ich Herrn Privatdozenten Dr. med. F. Strieck für die freundliche Überlassung des Themas, die gütigen Ratschläge bei der Arbeit und die freundliche Unterstützung bei den experimentellen Versuchen meinen besten Dank aussprechen.

Ich versichere hiermit ehrenwörtlich, daß ich vorstehende Arbeit selbständig verfaßt und außer der angegebenen Literatur keine anderen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

Werner Just

Schrifttum.

1. Krogh, Dtsch. Med. Wschr. 1923, S. 1321.
2. Layton, Lancet 1923, S. 756.
3. Müller und Corbitt, Journ. Labor. clin. med. 9. 608. 1924.
4. Berhardt und Strauch, Z. Klin. Med. 104. 744, 767. 1926.
5. Burgess und Campell, Lancet 1932 II, 777.
6. Dolfini und Deganello, Atti Soc. Med. Chir. Padov. 12. 23. 1934.
7. Katsch-Scholderer und Klatt, Z. klin. Med. 129. 608, 1936.
8. Brunnengräber, Klin. Wschr. März 1937.
9. Jensen, Science, 614—618, 1932.
10. Wintersteiner J., of biol. Chem. 97, 93—98, 1932.
11. Geiling-Du Vigneaud J., of pharmacol. 33, 497—509, 1928.
12. Evans, Hoppe Sykens 209, 134—144. 1932.
13. Lawder, Hoppe Sykens 190, 262—272 1930.
14. Bruch, Naunyn Schmiedebergs Arch. 173, 439—451.
15. Bürger-Pätzoldt Naunyn Schmiedebergs-Arch. 174. 130—142, 118—129.
16. Scott, Biochemic. J. 28. 1592—1602.
17. Howard, Bull. Hopkins Hospital 52. 173—178. 1933.
18. Himsworth, Lancet 2. 165. 1932.
19. Mains-Mc Mullin, J. of Amer. Med. Assoc. 1936. 959.
20. Hagedorn-Jensen-Krauup-Wodstrup, J. A. M. A. 106, 177, 1936.
21. Scott und Fisher, J. of Pharmacol. 58, 78—92, 93—104, 1936.
22. Root-White-Marble-Stootz, J. A. M. A. 106, 180. 1936.
23. Jacobi, Amer. J. digest. dis. a nutrite. 3, 908—915. 1937.
24. Joslin-Root-Marble-White-Lynch, New-England. J. Med. 214, 10.
25. Campbell-Fletscher-Kerr, A. M. A. J. 107, 1936.
26. Sprague-Blum-Osterberg-Kepler-Wilder, Ibid. 1701, 1936 J. Amer. M. A. 106, 1701—1705.
27. Richardson und Bowie, Amer. J. med. Sci. 192, 764—772, 1936.
28. Rabinowitsch-Fowler-Corcoran, Canad. Med. A. J. Nr. 2, Febr. 1937.
29. Lawrence und Archer British, Med. J. März 1937 487.

Lebenslauf.

Ich, Werner Just, bin geboren am 10. November 1910 zu Dresden als Sohn des Kaufmanns Albrecht Just und dessen Ehefrau Martha, geb. Lehmann. Nach Besuch der Volksschule in Dresden und Leipzig trat ich im Jahre 1920 in das humanistische Königin-Karola-Gymnasium in Leipzig über und erwarb dort im Frühjahr 1930 das Reifezeugnis. Mein medizinisches Studium begann ich im selben Jahre in Freiburg i. B. Weiterhin studierte ich in München, Heidelberg und Leipzig, um nach bestandener Vorprüfung im März 1933 mein Studium bis zum Staatsexamen in Würzburg fortzusetzen. Mein Staatsexamen bestand ich im Januar 1937, von wo an ich als Mediz.-Praktikant an der hiesigen Mediz. Univ.-Klinik tätig bin.